

本文以我国特产短尾仓鼠为实验材料,用医用活性炭经过研磨和酸碱处理后配成无菌的BrdU活性炭悬浮液,一次性腹腔注射,27小时后按常规方法制备仓鼠骨髓和脾脏的淋巴细胞染色体标本,研究了不同剂量的BrdU对仓鼠骨髓淋巴细胞的SCE频率、染色体畸变率、分裂指数、细胞增殖周期以及对姐妹染色单体分色(sister chromatid differentiation, SCD)的影响。

结 果

1. 仓鼠体重在20—25g范围内, BrdU剂量从5 mg/只—80mg/只, 其SCE频率基本上是随BrdU剂量的增加而增加。如每只5 mg剂量组其SCE频率是每个细胞 2.63 ± 0.35 , 每只80mg剂量组其SCE频率是 7.51 ± 0.82 , 后者是前者的2.8倍。但是5 mg/只、10mg/只和15mg/只三组之间SCE频率无显著性差异, 从BrdU剂量和SCE频率的相关曲线来看这一段也比较平直。到20mg/只以后, SCE频率才显著上升, 因此我们认为仓鼠的自发SCE应是BrdU的剂量在5 mg/只—15mg/只之间所观察到的值, 即每个细胞3次左右, 这一结果和国外学者在体外的研究结果相似。因此我们提出了剂量阈值的概念, 即在哺乳动物中, 无论体内或体外, 在自发的SCE值波动范围内, 其BrdU剂量有一个阈值, 超过这一阈值SCE才明显上升。也就是说在自发的SCE值附近, BrdU剂量在这个阈值的上限以下波动, 对SCE率影响不大。

2. 在研究BrdU剂量对SCE频率影响的同时, 我们也观察了染色体畸变率。结果表明: 随着BrdU剂量的增加, 染色体畸变率也增加。其畸变类型主要是染色体型和染色单体型的断裂和裂隙(Gap), 其他类型的畸变极少, 而国外学者在体外系统的类似研究, 还看到一定数量的单体互换型畸变, 我们分析可能体外无解毒系统, 因而BrdU比在体内毒性大的缘故, 当然也不排斥在体内因代谢活化使毒性增大的可能性。

3. 骨髓淋巴细胞的分裂指数随着BrdU剂量的加大而降低。

4. 细胞动力学观察结果表明, 随着BrdU剂量的递增, M_1 期的细胞逐渐增加, 这一结果也佐证了上面的结论, 即说明BrdU在体内能延缓细胞分裂周期。

5. 在分色条件恒定的情况下, BrdU剂量越大分色越容易, 但是到每只20mg以后, 尽管BrdU剂量成倍的增加, 而分色良好的细胞组间差异并不大。说明仓鼠体重在20—25g范围内每只动物20mg BrdU, 就有足够的剂量未被肝脏降解而取代了DNA中胸腺嘧啶核苷使绝大多数 M_2 期以上的细胞分色清晰。

6. 缓冲液pH对SCD的影响: 分色时缓冲液pH对SCD好坏有直接关系, 我们从pH5到9散了6个组合, 结果是pH7.5时分色良好的细胞百分率最高。经过多次重复证明这个pH确是分色的最佳条件之一。

一例男性不育的染色体畸变分析

郭健民 施立明

(中国科学院昆明动物研究所)

苏健武 张连元 唐丽明

(云南省第一人民医院泌尿科)

摘 要

我们对不育男性作染色体检查时, 发现了一例因照射作用影响生育力的病例。

患者, 男性, 37岁。从事放射科工作12年, 因结婚四年无子女而就诊。体检正常, 未患过放射病, WBC 属正常范围。精液化验: 精液量3毫升, 精子计数2.4千万/毫升, 精子成活率为40%。配偶曾有过一次自然流产。

患者精液染色体分析表明: 1. 精液中有较多的减数分裂细胞, 包括第一减数分裂前期(细线期、粗线期、双线期、终变期), 中期Ⅰ和中期Ⅱ, 同时也看到少数的精原细胞有丝分裂中期。2. 计数128个中期Ⅱ细胞, 可作核型分析者占35.2%, 可分析的中期Ⅱ有44.4%是减数分裂异常细胞, 主要的畸变类型是染色体解体、碎裂、断片、单价染色体等。外周静脉血淋巴细胞染色体检查结果: 核型: 46, XY, 畸变细胞约占16%。染色体畸变类型有双着丝点染色体、缺失、无着丝点环、断片等。

睾丸是对辐射作用最为敏感的器官之一。减数分裂染色体出现很高的畸变率说明精子发生受到损伤, 这必然影响患者的生育能力。在一般情况下, 产生双着丝点染色体畸变是少见的, 而患者的外周血淋巴细胞分裂中期就有3/100个双着丝点染色体, 畸变细胞占16%左右, 因此, 体细胞染色体分析结果进而证明这种损伤可能主要来自辐射作用。我们的结果也表明, 精液染色体分析在男性不育病例的病因诊断工作中是值得试用的简易有效新方法, 利用该程序可以不作睾丸活检术而查觉出一些男性不育病例中的减数分裂异常现象。

小鼠骨髓细胞姐妹染色 单体互换实验方法

孟广叔 徐桂荣 杨德一

(天津市劳动卫生研究所)

本文介绍了在Palitti等人^[1]的方法基础上进行改良的活体小鼠骨髓细胞姐妹染色单体互换(SCE)分析技术。本方法灵敏、快速、经济、更为方便, 无需使用荧光染料, 可制备良好的永久性标本。小鼠骨髓细胞SCE/细胞基线值为0—3, 平均 0.48 ± 0.08 (S. E.)。通过用已知的诱变物环磷酰胺(CP)作为阳性对照物进行实验观察, CP可以强烈诱发SCE, 并显示出线性的剂量——效应关系。

SCE作为一种染色体水平的细胞遗传学实验方法, 已广泛用于筛检评价环境中的诱变物和致癌物, 以及其他可以导致DNA损伤的因素。SCE分析一般采用5—溴尿嘧啶核苷(BrdU)——姐妹染色单体差别(SCD)染色技术。BrdU是一种人工核苷类似物, 在活体动物体内迅速降解, 很难在两个细胞分裂周期内维持一定水平。因此在采用体内SCE实验时, BrdU一般只掺入到一个细胞周期^[2]。多数实验动物细胞DNA合成期持续时间比较恒定, 平均为6—8小时。这里介绍的实验采用的是间隔一小时注射一次BrdU, 共注射7次的方法, 使BrdU在体内维持一定浓度的时间与细胞DNA合成期时间大致相等, BrdU在第一个DNA合成期内取代胸腺嘧啶参与DNA合成。

材 料 和 方 法

选择健康的昆明种雄性小鼠, 体重25—28克(本所动物饲养室提供)。将动物分为四组, 一个对照组, 三个不同剂量的实验组, 每组5只小鼠, 各组分笼喂养。如图1所